

Министерство науки и высшего образования РФ
Правительство города Севастополя
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр
«Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»
Всероссийское гидробиологическое общество при Российской академии наук
Русское географическое общество
Паразитологическое общество при Российской академии наук

Изучение водных и наземных экосистем: история и современность

Международная научная конференция, посвящённая 150-летию
Севастопольской биологической станции —
Института биологии южных морей имени А. О. Ковалевского
и 45-летию НИС «Профессор Водяницкий»

Тезисы докладов

13–18 сентября 2021 г.
Севастополь, Российская Федерация

Севастополь
ФИЦ ИНБЮМ
2021

Оценка воздействия ионов меди на динамику роста клоновых культур трёх видов бентосных диатомовых водорослей (Bacillariophyta) Чёрного моря

Петров А. Н., Неврова Е. Л., Трофимов С. А., Литвин Ю. И.

ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН», Севастополь, Россия

alexp14@mail.ru

Усиление антропогенной нагрузки на прибрежные морские экосистемы определяет актуальность биологического мониторинга и дальнейшего развития экотоксикологических методов для определения состояния различных групп гидробионтов под влиянием поллютантов. Перспективными, но недостаточно широко используемыми тест-объектами являются бентосные диатомовые водоросли — в связи с их массовым развитием и приуроченностью к определённым прибрежным биотопам, а также видоспецифичной чувствительностью к загрязняющим веществам водной среды. Выбор оптимальных тест-объектов, анализ их морфофизиологических откликов и определение диапазонов резистентности разных видов на воздействие поллютантов является важной задачей при биотестировании и опосредованной оценке качества морской среды.

Исследована динамика роста численности клеток клоновых культур трёх видов бентосных диатомовых (Bacillariophyta) — *Thalassiosira excentrica* Cleve, 1903, *Pleurosigma aestuarii* (Bréb. in Kütz.) W. Smith, 1853 и *Ardissonea crystallina* (C. Agardh) Grunow, 1880 — при воздействии $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ разной концентрации в условиях 10-суточных лабораторных экспериментов. Указанные виды характеризуются широкой встречаемостью в сублиторали Чёрного моря и удобством культивирования, однако мы не нашли информации о применении этих видов в качестве тест-объектов для оценки качества природной воды и грунта, а также данных о динамике развития и физиологическом состоянии культур в длительном эксперименте. Такие сведения могли бы служить основой для дальнейших исследований по внедрению диатомовых бентоса в практику биотестирования. Цель работы состояла в сравнительной оценке изменений доли (%) живых клеток, абсолютной численности и удельной скорости прироста клеток в культурах тестируемых видов при разных сроках экспозиции и спектре концентраций ионов меди от 32 до 1024 мкг·л⁻¹.

Установлено, что у эволюционно наиболее древней и морфологически примитивнее устроенной *T. excentrica* на протяжении первых 7 суток экспозиции при низких концентрациях Cu^{2+} (до 64 мкг·л⁻¹) доля живых клеток почти не меняется (99–96 %), лишь к 10-м суткам снижаясь статистически недостоверно до 93–92 % (в контроле и при 32 мкг·л⁻¹) и до 77 % (при 64 мкг·л⁻¹). При увеличении концентрации ионов меди до 128 мкг·л⁻¹ доля живых клеток в культуре уже на 5-е и 7-е сутки значительно (и достоверно) снижается до 70 и 54 % соответственно, а на 10-е сутки — до 42 %, что позволяет считать данную концентрацию токсиканта пороговой для выживания *T. excentrica*. При концентрациях Cu^{2+} 256 мкг·л⁻¹ и выше, вплоть до максимально тестируемой 1024 мкг·л⁻¹, отмечено резкое угнетение клоновой культуры уже начиная с 1-х суток опыта, а на 3–5-е сутки доля живых клеток снижалась практически до 0 %.

У *A. crystallina* в диапазоне концентраций ионов меди 32–128 мкг·л⁻¹ доля живых клеток в культуре плавно возрастает от исходных 67–70 % до 84–86 % к 5-м суткам, а на 7-е и 10-е сутки статистически недостоверно снижается до 79 и 67 % соответственно. Однако при концентрации ионов меди 256 мкг·л⁻¹ доля живых клеток резко снижается до 47 % начиная с 3-х суток эксперимента, а к 10-м суткам — до 35–37 %, что определяет данную концентрацию токсиканта как критическую

для выживания *A. crystallina*. При концентрациях ионов Cu^{2+} $384 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ и более происходит резкое снижение доли живых клеток *A. crystallina* и последующее отмирание культуры; для концентраций $448\text{--}1024 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ 100%-ное отмирание клеток отмечено уже на 3-и сутки эксперимента.

Результаты тестирования третьего объекта — эволюционно наиболее молодого и морфологически сложно организованного вида *P. aestuarii* — показали, что в контроле и при концентрациях ионов меди $32\text{--}256 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ доля живых клеток в тест-культуре на протяжении всего эксперимента почти не меняется (95–99 %). Это свидетельствует о более высокой резистентности вида по сравнению с остальными тест-объектами. Однако при повышении концентрации Cu^{2+} до $320 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ доля живых клеток в культуре уже на 3-и сутки резко снижается с 90 до 23 %, а на 5-е сутки — до 10 %, что характеризует данную концентрацию как пороговую для выживания *P. aestuarii*. При концентрации Cu^{2+} $384 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ и выше отмечено резкое угнетение культуры уже через сутки, а на 3–5-е сутки доля живых клеток падает до 0 %.

Результаты исследования динамики абсолютной численности клеток у тестируемых видов диатомовых показали, что при малых концентрациях ионов меди (до $64 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ у *T. excentrica*, до $128 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ у *A. crystallina* и до $256 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ у *P. aestuarii*) характер прироста описывается сигмоидной кривой отклика тест-объекта. В период 1–5-х суток прирост численности клеток у разных видов возрастает в 3–8 раз по сравнению с исходными значениями, достигая максимума и выходя на плато к 5–7-м суткам, а в последующий период он характеризуется некоторым снижением (на 10–25 %) за счёт действия токсиканта и старения культур. Для всех видов выявлено достоверное ($P < 0,05$) соответствие между снижением абсолютных показателей прироста культуры и возрастанием концентраций токсиканта в экспериментальной среде. Для каждого тест-объекта данные зависимости являются видоспецифичными с учётом пороговых концентраций токсиканта: наиболее крутой сигмоидный тренд прироста клеток зарегистрирован у *T. excentrica*, а наиболее сглаженный вид сигмоиды отмечен в культуре *A. crystallina*.

Расчёт скорости удельного прироста численности клеток в популяции как одного из важных биотестовых показателей выполнен на основе учёта количества клеточных делений в сутки (v) [Спиркина и др., 2014]. Определены параметры прямой зависимости между увеличением концентрации токсиканта и снижением интенсивности удельного прироста клеток тестовых видов диатомовых в культуральной среде. Для культуры *T. excentrica* наибольший положительный удельный прирост ($1,27\text{--}0,13$) выявлен только в первые 3 суток в диапазоне концентраций Cu^{2+} $32\text{--}128 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$. При пороговой концентрации токсиканта ($128 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$) скорость прироста клеток *T. excentrica* ещё сохраняется положительной ($0,13$ деления в сутки), что ниже контроля в 12 раз. В последующий период (3–5-е сутки) положительный удельный прирост ($0,35\text{--}0,12$) сохраняется только при концентрациях ионов меди 32 и $64 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$. Для концентраций $256 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ и выше резко отрицательный удельный прирост ($-0,20\text{--}-0,43$) регистрируется уже после 1-х суток опыта.

Для культуры *A. crystallina* самый высокий удельный прирост тест-культуры также отмечен в период 1–3-х суток ($3,0\text{--}0,17$) для концентраций Cu^{2+} от 32 до $128 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$, однако уже с 5-х суток удельный прирост (кроме контроля) становится отрицательным, культура отмирает. При концентрации $256 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ и выше и в остальные периоды экспозиции культура *A. crystallina* характеризовалась отрицательным приростом ($-0,11\text{--}-0,34$).

Тест-культура *P. aestuarii* характеризуется положительным удельным приростом численности ($0,89\text{--}0,18$) для концентраций Cu^{2+} $32\text{--}256 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ в период 1–7-х суток, при этом максимум удельного прироста приходится на период с 3-х по 5-е сутки ($0,73\text{--}0,89$). Начиная с пороговой концентрации токсиканта $320 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ и выше удельный прирост популяции становится отрицательным ($-0,25\text{--}-0,50$).

Изученные виды диатомовых бентоса могут быть рекомендованы как тест-объект в токсикологических экспериментах, а также при экологическом мониторинге и опосредованной оценке состояния прибрежных морских акваторий в условиях техногенного загрязнения донных биотопов.

Работа выполнена по теме госзадания ФИЦ ИНБЮМ 0556-2021-0002, № гос. регистрации 121030100028-0.